*WIESŁAWA SZKIŁŁĄDZIOWA, ZOFIA ZIELIŃSKA*

# BADANIE NAD ZASTOSOWANIEM SZCZURÓW HYBRYDÓW $F_1$ DO ŻYWIENIOWYCH DOŚWIADCZEŃ BIOLOGICZNYCH

Z Zakładu Wartości Odżywczych Żywności Instytutu Żywności i Żywienia w Warszawie
Kierownik: doc. dr hab. *M. Rakowska*

*Szczury mieszańce pierwszego pokolenia hybrydy $F_1$ dwóch różnych szczepów wsobnych (August × Wistar WAG) zastosowano do doświadczeń nad oznaczeniem współczynnika wykorzystania białka (NPU). Badanie przeprowadzono na standardowym białku kazeiny. Wyniki porównano z danymi uzyskiwanymi na szczurach niekrewniaczych Wistar-Outbred, które były dotychczas najpowszechniej stosowane. Opracowano też dla nowowprowadzonych szczurów hybrydów $F_1$ (A×W) równanie regresji służące do pośredniego oznaczania zawartości azotu w tuszy. Stwierdzono mniejszy rozrzut otrzymanych wyników wpływający znacznie na obniżenie błędu doświadczalnego.*

## WSTĘP I CEL PRACY

Odpowiednia standaryzacja zwierząt laboratoryjnych jest niezbędna do przeprowadzania wszelkiego typu badań biologicznych. Sprawę tę, między innymi podkreśla wielu autorów [3, 4, 5, 8, 10]. Podczas wieloletniej praktyki przeprowadzania badań biologicznych na szczurach laboratoryjnych szczepu *Wistar-outbred* — w Instytucie Żywności i Żywienia stwierdzono, że pomimo starań o wyhodowanie jak najlepiej wystandardyzowanych szczurów w stałych i optymalnych warunkach środowiska, żywienia, chowu, zdarzają się nieprzewidziane i nieuzasadnione odchylenia wśród otrzymywanych wyników doświadczeń biologicznych dotyczących oceny wykorzystania białka żywności, z czym również spotykają się i inni autorzy [2, 7].

Celem niniejszej pracy było określenie przydatności szczurów mieszańców pierwszego pokolenia (hybrydów $F_1$) dwóch wsobnych szczepów (*August*×*Wistar* WAG). W poprzednich badaniach [12] nad prawidłowością przyrostu ciężaru ciała w różnych populacjach szczurów laboratoryjnych, nie stwierdzono różnic w samym procesie wzrostu, stwierdzono natomiast, że mieszańce pierwszego pokolenia szczepów wsobnych *August*×*Wistar* WAG hybrydy $F_1$ charakteryzowały się równomiernym przebiegiem wzrastania w okresie od urodzenia do około 3 miesiąca życia i przy tym mniejszym rozrzutem przyrostów ciężaru ciała w porównaniu ze stosowanymi dotychczas niekrewniaczymi szczurami szczepu *Wistar-outbred.*

Przy oznaczaniu współczynnika wykorzystania białka (NPU) konieczna jest znajomość zawartości azotu w tuszy szczurów doświadczalnych, co przy bezpośrednim oznaczaniu tego składnika, połączone jest z dużym

nakładem pracy i pewnymi trudnościami. Znacznym uproszczeniem może być pośrednie wyliczenie zawartości azotu po wykonaniu prostszych analiz np. oznaczenie zawartości wody czy suchej masy w tuszy, opierając się na stwierdzeniu stałego stosunku zawartości wody do azotu ($H_2O/N$ = const) w ciele młodych szczurów w wieku 20—40 dni życia. *Miller* i *Bender* [6] wykorzystali te zależności w swoich badaniach i opracowali metodę pośredniego oznaczania azotu w ciele szczurów doświadczalnych stosowanych w Anglii. *Rafalski* i *Nogal* [9] wykonali podobne opracowanie dla szczurów *Wistar*-outbred używanych dotąd u nas.

W niniejszych badaniach analogiczne opracowanie wykonano odnośnie nowo zastosowanych szczurów szczepu hybrydy $F_1$ *August*×*Wistar* WAG.

## MATERIAŁ I METODYKA

Badania biologiczne wykonano z zastosowaniem metody *Millera-Bendera*, oznaczenia współczynnika wykorzystania białka netto NPU [6, 11, 1], który określa retencję azotu w ciele szczurów doświadczalnych wg następujących wzorów:

$$NPU\% = \frac{(Bf-Bo) - (Bk-Bo) + Jk}{Jf} \cdot 100 \quad (1)$$

po przekształceniu i skróceniu natomiast:

$$NPU\% = \frac{Bf-Bk + Jk}{Jf} \cdot 100 \quad (2)$$

gdzie: Bf = zawartość N w tuszy zwierząt na diecie badanej,
Bk = zawartość N w tuszy zwierząt na diecie bezbiałkowej,
Bo = zawartość N w tuszy zwierząt wyjściowych (na początku),
Jf = N spożyty w diecie badanej,
Jk = N (ślady) spożyty w diecie bezbiałkowej.

Zawartość azotu w ciele (tuszy) zwierząt oznaczono bezpośrednio metodą *Kjeldahla* oraz pośrednio z oznaczenia wody, suchej masy i przyrostu ciężaru ciała.

Do doświadczeń zastosowano szczury dotychczas stosowane *Wistar*-outbred oraz nowowprowadzone szczury mieszańce pierwszego pokolenia (*Wistar* x *August* WAG) hybrydy $F_1$. Badanie przeprowadzono stosując w podstawowej diecie doświadczalnej kazeinę z tej samej partii surowca jako białko o znanej wysokiej wartości odżywczej, przyjmowane w wielu przypadkach jako białko standardowe.

## CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Doświadczenia przeprowadzono łącznie na 240 szczurach (160 — hybrydy $F_1$ *August* x *Wistar* WAG i 80 — *Wistar*-outbred) seriami w okresach trwających po 10 dni. Do doświadczeń używano szczury w wieku 23—25 dni bezpośrednio po odsadzeniu od matek. Zwierzęta wybierano z miotów, które były wyrównane w czwartym dniu po urodzeniu do liczby 8 młodych pozostawionych przy matce. W każdej serii doświadczeń kompletowano 8 grup szczurów po 4 osobniki w każdej grupie, rozdzielając do poszczególnych grup zwierzęta pochodzące z 4 różnych miotów w ten sposób, aby z każdego miotu jeden z 8 szczurów znalazł się w innej grupie doświadczalnej. W czasie kompletowania grup doświadczalnych wszystkie szczury wybierano z miotów w ten sposób, aby ogólny ciężar ciała dobranych osobników w grupie był optymalnie zrównoważony a różnice między poszczególnymi grupami nie przekraczały 2 gramów.

Poszczególne grupy szczurów doświadczalnych umieszczono w osobnych klatkach umożliwiających przeprowadzenie dokładnej kontroli spożycia diety, zbierania niespożytej diety itp. Klatki ze zwierzętami znajdowały się w pomieszczeniach o regulowanym automatycznie 12-godzinnym oświetleniu oraz kontrolowanej temperaturze $26 \pm 1°C$ i wilgotności 50—70%.

Wodę oraz pożywienie podawano wszystkim zwierzętom *„ad libitum"*. Skład diet doświadczalnych ilustruje tabela I.

Tabela I
Skład diet doświadczalnych

| Składniki diety | Skład diety w% | |
|---|---|---|
| | Kazeina | bezbiałkowa |
| Kazeina | 10,0 | — |
| Skrobia pszenna | 45,4 | 55,5 |
| Skrobia ziemniaczana*) | 5,0 | 5,0 |
| Cukier | 20,0 | 20,0 |
| Olej sojowy | 12,6 | 12,5 |
| Tran | 2,0 | 2,0 |
| Mieszanka soli mineralnych**) | 4,0 | 4,0 |
| Mieszanka witamin z grupy B**) | 1,0 | 1,0 |
| Razem | 100,0 | 100,0 |

*) zamiast preparatu dostarczającego czystego błonnika stosuje się skrobię ziemniaczaną, która nie jest trawiona w przewodzie pokarmowym szczura, a wzmaga perystaltykę jelit w przypadku diet bezbłonnikowych

**) skład mieszanki składników mineralnych i witamin wg danych piśmiennictwa [11].
Diety były izokaloryczne i zawierały ok. 400 kcal/100 g diety

Codziennie w takim samym czasie, przeprowadzano kontrolę ogólnego ciężaru ciała wszystkich zwierząt w każdej grupie. Po 10 dniach wszystkie zwierzęta w każdej serii usypiano nieodwracalnie eterem i układano grupami na metalowych, uprzednio wyważonych tackach i całość ważono. Następnie u każdego szczura otwierano jamy ciała: brzuszną, klatki piersiowej i czaszki. Przygotowane w ten sposób tuszki zwierząt wstawiano do suszarki elektrycznej i pozostawiano przez 48 godzin w temperaturze 105°C. Po wysuszeniu dokładnie oznaczano ciężar wysuszonych tuszek szczurów w każdej grupie i obliczano w nich zawartość wody i suchej masy. Tusze mielono przepuszczając trzykrotnie przez maszynkę do mielenia mięsa, każdą grupę osobno i po dokładnym wymieszaniu naważano próbki do 2 g do oznaczania azotu metodą *Kjeldahla*. Ponadto oznaczano również zawartość azotu w dietach doświadczalnych oraz ilość suchej masy zarówno w dietach i w zebranych resztkach diety (niewyjadkach) nie spożytej przez zwierzęta.

Po oznaczeniu zawartości azotu w tuszach szczurów karmionych dietą kazeinową, wyliczono NPU kazeiny według wzoru 2. W kilku grupach szczurów szczepu *Wistar*-outbred jak też szczurów hybrydy $F_1$ *August* x *Wistar* WAG określono również na podstawie odpowiednich wyliczeń, wyjściową zawartość azotu Bo w tuszach szczurów na początku doświadczenia.

## WYNIKI

Wyniki doświadczeń biologicznych przedstawiono w tabeli II dla szczurów *Wistar*-outbred oraz w tabeli III dla szczurów hybrydów $F_1$.

Tabela II

Wyniki doświadczeń biologicznych oznaczenia współczynnika wykorzystania białka (NPU) kazeiny przeprowadzonych na szczurach szczepu *Wistar*-outbred

| Dieta kazeinowa | | | | | | | Dieta bezbiałkowa | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Azot | | | | | Azot | |
| Nr doświadczenia | Początkowy ciężar ciała g | Końcowy ciężar ciała g | Sucha masa spożytej diety g | spożyty (If) g | w tuszy (Bf) g | NPU % | Nr doświadczenia | Średni ciężar na początku g | spożyty (Ik) g | w tuszy (Bk) g |
| 681 | 214 | 254 | 203,4 | 3,09 | 6,42 | 62,7 | 675 | 213 | 0,08 | 4,70 |
| 689 | 214 | 255 | 207,9 | 3,16 | 6,92 | 79,4 | 683 | 213 | 0,14 | 4,44 |
| 697 | 203 | 247 | 211,7 | 3,21 | 6,75 | 70,7 | 690 | 202 | 0,16 | 4,64 |
| 705 | 196 | 234 | 201,2 | 2,71 | 6,55 | 84,9 | 698 | 195 | 0,15 | 4,40 |
| 713 | 199 | 226 | 161,8 | 2,18 | 6,27 | 81,1 | 706 | 200 | 0,14 | 4,64 |
| 721 | 196 | 227 | 177,8 | 2,40 | 6,34 | 82,5 | 714 | 197 | 0,15 | 4,51 |
| 729 | 206 | 251 | 210,3 | 2,84 | 6,95 | 85,6 | 722 | 206 | 0,15 | 4,67 |
| 737 | 216 | 260 | 225,4 | 3,07 | 7,26 | 77,2 | 730 | 216 | 0,17 | 5,06 |
| 744 | 210 | 224 | 171,9 | 2,32 | 6,52 | 70,2 | — | — | — | — |
| 753 | 207 | 236 | 192,9 | 2,60 | 6,77 | 86,1 | 746 | 207 | 0,16 | 4,69 |
| Średnia $\overline{x}$ | 206,1 | 241 | 196,4 | 2,76 | 6,67 | 78,0 | | 205 | 0,14 | 4,64 |
| Odchylenia standardowe s | | 13,5 | 20,1 | 0,37 | 0,31 | 7,8 | | 7,5 | 0,24 | 0,19 |

Obie tabele zawierają również dodatkowo informacje o początkowym i końcowym ciężarze ciała szczurów, o ilości spożytego azotu, zawartości azotu w tuszy zwierząt oraz statystyczne wyliczenia średnich ($\bar{x}$) i odchyleń standardowych (s). W tabeli IV przedstawiono porównanie współczynników wzrastania (W) i wykorzystania białka (NPU) obliczonych na podstawie danych uzyskanych z doświadczeń przeprowadzonych na obu zastosowaynch populacjach szczurów (*Wistar*-outbred oraz hybrydy $F_1$).

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Analizując dane przedstawione w tabelach II i III stwierdza się bardzo zbliżone wielkości współczynnika wykorzystania białka kazeiny (NPU) oznaczonego na obu zastosowanych do doświadczeń szczepów (*Wistar*-outbred i hybrydy $F_1$). Obliczona średnia wynosi odpowiednio 78 i 75%. Należy podkreślić, że wyniki uzyskane w warunkach tego doświadczenia wykazują mniejsze wahanie przy zastosowaniu szczurów hybrydów $F_1$ niż *Wistar*-outbred na co między innymi wskazują wartości odchyleń standardowych wskaźnika NPU wynoszące dla szczurów hybrydów $F_1$ 5,4 natomiast 7,8 dla *Wistar*-outbred. Stosunki te świadczą o tym, że rozbieżności liczbowe wyników otrzymanych w czasie oznaczania NPU są mniejsze w przypadku gdy materiałem doświadczalnym są szczury hybrydy $F_1$ *August*×*Wistar* WAG.

Analizując dane przedstawione w tabeli IV można zauważyć pewne prawidłowości występujące przy oznaczaniu współczynnika NPU na dwóch zastosowanych populacjach szczurów. Uzyskane wyniki sugerują, że spożycie diety podawanej „*ad libitum*" i zawartego w niej azotu jest większe w grupach hybrydów $F_1$ (3,8 g niż u szczurów *Wistar*-outbred (2,76 g). Hybrydy $F_1$ wykazują prawie dwukrotnie większy przyrost ciężaru ciała w ciągu 10 dni doświadczenia, jak też wyższy współczynnik wzrastania W, który u hybrydów $F_1$ wynosi 0,28 natomiast u *Wistar*-outbred wyraża się liczbą 0,18.

Następną obserwacją jest różnica w zawartości azotu w tuszach zwierząt. W wyjściowym punkcie doświadczenia zawartość azotu w ciele szczurów *Wistar*-outbred była wyższa (5,67) niż u hybrydów $F_1$ (4,85). Różnica ta wystąpiła również przy końcu doświadczenia u szczurów obu populacji, które otrzymywały dietę bezbiałkową (analogicznie 4,64 oraz 4,01). Różnicy tej nie stwierdzono w końcu doświadczenia u zwierząt spożywających dietę kazeinową o czym świadczy zawartość azotu oznaczona w tuszach tych zwierząt — 6,67 dla *Wistar*-outbred i 6,68 dla hybrydów $F_1$.

Na podstawie przedstawionych w tabeli IV wyliczeń współczynnika NPU poprzez wyodrębnienie ogólnego procesu syntezy białka, wyrażonego jako różnica między zawartością azotu końcową Bf u szczurów karmionych dietą badaną (kazeinową) i zawartością azotu wyjściową (Bo) w tuszy zwierząt obu populacji zastosowanych do doświadczeń, można stwierdzić, że synteza białka (Bf— Bo) wynosi 1,8 g u szczurów hybrydów $F_1$ i jest tym samym prawie dwukrotnie wyższa od syntezy białka zachodzącej u szczurów *Wistar*-outbred a wyrażającej się wartością 1,0 g. Proces rozpadu białka (Bo — Bk) u szczurów hybrydów $F_1$ jest tylko nieznacznie większy (1,03 g) od analogicznego procesu u szczurów *Wistar*-outbred (0,84 g). Końcowe wyliczenia wskaźnika NPU przeprowadzone tą drogą dają wyniki bardzo podobne dla obu

Tabe

Wyniki doświadczeń biologicznych oznaczania współczynnika wykorzystania białka
*August* i

| Nr doświad. | Początek średni ciężar ciała g | Końcowy ciężar ciała g | S.m. spożytej diety g | N spożyty If g | Analiza N: Nw tuszy $B_{f_g}$ g | NPU |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dieta kazeinowa | | | | | |
| 3 | 188 | 281 | 287,1 | 4,42 | 7,23 | 75,5 |
| 4 | 188 | 260 | 251,3 | 3,86 | 6,56 | 69,2 |
| 5 | 188 | 293 | 302,3 | 4,65 | 7,50 | 77,6 |
| 6 | 188 | 276 | 292,5 | 4,50 | 6,92 | 67,3 |
| 8 | 190 | 284 | 270,3 | 4,47 | 7,22 | 74,5 |
| 11 | 197 | 270 | 264,6 | 4,07 | 6,97 | 70,5 |
| 12 | 196 | 268 | 274,3 | 4,22 | 7,60 | 82,9 |
| 23 | 202 | 265 | 228,3 | 3,51 | 6,79 | 71,2 |
| 24 | 202 | 287 | 272,6 | 4,19 | 7,35 | 73,0 |
| 25 | 199 | 268 | 240,4 | 3,70 | 6,67 | 64,0 |
| 26 | 200 | 263 | 233,9 | 3,60 | 6,63 | 65,0 |
| 27 | 202 | 260 | 243,4 | 3,75 | 6,86 | 68,5 |
| 28 | 202 | 274 | 249,8 | 3,84 | 7,02 | 71,0 |
| 31 | 180 | 250 | 239,9 | 3,69 | 6,46 | 71,3 |
| 32 | 181 | 255 | 237,6 | 3,66 | 6,58 | 75,1 |
| 33 | 180 | 246 | 223,2 | 3,44 | 6,38 | 74,1 |
| 36 | 180 | 240 | 214,4 | 3,30 | 6,27 | 82,1 |
| 37 | 180 | 250 | 235,2 | 3,62 | 6,35 | 77,1 |
| 38 | 179 | 230 | 206,0 | 3,17 | 6,15 | 81,7 |
| 39 | 180 | 237 | 215,3 | 3,31 | 6,22 | 84,0 |
| 40 | 180 | 245 | 235,5 | 3,60 | 6,38 | 78,3 |
| 41 | 180 | 240 | 229,4 | 3,59 | 5,98 | 68,5 |
| 44 | 182 | 245 | 235,8 | 3,63 | 6,58 | 82.4 |
| 45 | 181 | 251 | 258,9 | 3,99 | 6,84 | 81,4 |
| 46 | 182 | 246 | 251,9 | 3,88 | 6,48 | 74,5 |
| 47 | 181 | 235 | 223,6 | 3,44 | 6,24 | 77,0 |
| 48 | 181 | 248 | 245,3 | 3,78 | 6,51 | 77,2 |
| 49 | 182 | 242 | 234,7 | 3,61 | 6,42 | 78,4 |
| Średn. $\overline{x}$ | 187 | 257,7 | 246,3 | 3,80 | 6,68 | 74,6 |
| Odchylenie standard s | 0,6 | 17,5 | 24,1 | 0,38 | 0,42 | 5,41 |

badanych populacji i wynoszą 73 i 70%. Żywsza synteza białka obserwowana u szczurów hybrydów $F_1$ może sugerować większą wrażliwość ich ustroju na niedobory aminokwasów w pożywieniu. Jako ujemną cechę szczurów hybrydów $F_1$ przy zastosowaniu ich do tego rodzaju doświadczeń, należałoby wymienić skłonność ustroju do odkładania znacznej ilości tkanki tłuszczowej w ciele. Zjawisko takie zaobserwowano w czasie sekcji zwierząt, dokonywanych po zakończeniu poszczególnych serii doświadczeń. O większej skłonności do odkładania tłuszczu

la III
(NPU) kazeiny przeprowadzonych na szczurach hybrydach F mieszańcach szczepu *Wistar* WAG

| Suszenie | | Dieta bezbiałkowa | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Nw tuszy Bf g | NPU przy Bk z doświad. g | Nr doświad. | Początk. średni ciężar ciała g | N spożyty Ik g | Analiza N — N w tuszy Bk g | Suszenie — N w tuszy Bk g |
| 6,92 | 70,9 | 1 | 188 | 0,18 | 4,07 | 3,96 |
| 6,67 | 74,7 | 2 | 188 | 0,19 | 4,22 | 3,93 |
| 7,16 | 72,7 | | | | | |
| 6,80 | 67,1 | | | | | |
| 6,96 | 71,2 | | | | | |
| 6,85 | 72,6 | 9 | 197 | 0,17 | 4,27 | 4,07 |
| 6,68 | 65,9 | | | | | |
| 6,67 | 79,0 | | | | | |
| 7,09 | 76,1 | 21 | 200 | 0,19 | 4,26 | 4,29 |
| 6,61 | 73,5 | 22 | 201 | 0,14 | 4,43 | 4,03 |
| 6,65 | 76,6 | | | | | |
| 6,65 | 73,6 | | | | | |
| 6,76 | 74,7 | | | | | |
| 6,12 | 64,9 | 29 | 181 | 0,16 | 3,99 | 3,88 |
| 6,35 | 71,8 | 30 | 181 | 0,17 | 3,98 | 3,95 |
| 6,16 | 70,9 | | | | | |
| 6,00 | 72,5 | 34 | 181 | 0,15 | 3,71 | 3,76 |
| 6,27 | 73,4 | 35 | 180 | 0,14 | 3,62 | 3,84 |
| 5,85 | 70,6 | | | | | |
| 6,04 | 73,4 | | | | | |
| 6,19 | 71,8 | | | | | |
| 6,04 | 68,8 | | | | | |
| 6,12 | 69,6 | 42 | 180 | 0,17 | 3,89 | 3,76 |
| 6,19 | 65,3 | 43 | 181 | 0,15 | 3,72 | 3,80 |
| 6,27 | 69,1 | | | | | |
| 5,89 | 66,8 | | | | | |
| 6,23 | 69,9 | | | | | |
| 6,04 | 67,8 | | | | | |
| 6,44 | 71,2 | | 187 | 0,16 | 4,01 | 3,93 |
| 0,38 | 3,5 | | 0,6 | 0,01 | 0,26 | 0,15 |

u szczurów hybrydów świadczy fakt, że wartość liczbowa współczynnika wzrastania jest wyższa u tych zwierząt przy jednocześnie jednakowym współczynniku wykorzystania białka w obu populacjach użytych do przeprowadzonych badań.

Dla pełnej oceny przydatności szczurów hybrydów $F_1$ do badań współczynnika wykorzystania białka NPU w przyszłości, opracowano również pośrednią metodę oznaczania azotu w tuszy zwierząt tego szczepu.

Tabela IV

Porównanie współczynników wzrastania (W) i wykorzystania białka (NPU) obliczonych na podstawie danych z doświadczeń przeprowadzonych na szczurach *Wistar*-outbred oraz szczurach hybrydach $F_1$ (*August* × *Wistar* WAG)

| | Wistar-outbred | Hybrydy $F_1$ |
|---|---|---|
| Wiek w dniach (początek 10-dniowego doświadczenia) | 24—25 | 23—24 |
| Początkowy ciężar ciała (średnia dla 4 szczurów) | 205 | 187 |
| Końcowy ciężar ciała (średnia dla 4 szczurów) | 241 | 257 |
| Przyrost ciężaru ciała (średnia dla 4 szczurów) △cc | 36 | 70 |
| Spożycie suchej masy diety (średnia dla 4 szczurów) | 196,4 | 246,3 |
| Współczynnik wzrastania $W = \frac{\triangle cc}{1\text{ g spożytej s.m. diety}}$ | $W = \frac{36}{196,4} = 0,183$ | $W = \frac{70}{246,3} = 0,284$ |
| $B_o$ zawartość N w tuszy — wyjściowa (dla 4 szczurów) | 5,67 | 4,85 |
| $B_f$ zawartość N w tuszy po spożywawaniu diety badanej — kazeinowej | 6,67 | 6,68 |
| $B_k$ zawartość N w tuszy po spożywaniu diety bezbiałkowej | 4,64 | 4,01 |
| $I_f$ spożycie N w diecie badanej w doświadczeniu | 2,76 | 3,80 |
| Współczynnik wykorzystania białka | $NPU = \frac{(B_f - B_o) + (B_o - B_k)}{I_f} \times 100$ | |
| $B_f - B_o$ = synteza białka w organiźmie | $6,67 - 5,67 = 1,0$ | $6,68 - 4,85 = 1,83$ |
| $B_o - B_k$ = rozpad białka w organiźmie | $5,67 - 4,64 = 1,03$ | $4,85 - 4,01 = 0,84$ |
| NPU obliczono wg podanego wyżej wzoru | $\frac{1,0 + 1,03}{2,76} \cdot 100 = 73\%$ | $\frac{1,83 + 0,84}{3,80} \cdot 100 = 70\%$ |

## Pośrednia metoda obliczania azotu w ciele szczurów szczepu hybrydy $F_1$

Jak już wspomniano na początku bezpośrednie, chemiczne oznaczanie azotu w ciele szczurów jest metodą bardzo pracochłonną. W związku z tym opracowano pośrednią metodę oznaczania aztotu opierając się na poprzednio stwierdzonych zależnościach występujących między zawartością azotu, a ciężarem ciała, lub zawartością wody, lub suchą masą. Problem ten formułowano jako zagadnienie regresji jednej zmiennej o postaci.

$$y = a + bx \quad (3)$$

gdzie: y oznacza zawartość azotu, natomiast x oznacza odpowiednio albo

ciężar ciała, albo zawartość wody, albo suchą masę, a, b — parametry funkcji. Uzyskano w ten sposób trzy grupy wskaźników służące do wyliczania azotu. Autorzy tych wskaźników starali się udowodnić, które z nich są „lepsze" do obliczeń [9]. Wskaźniki wyliczone przez tych autorów odnoszą się wyłącznie do szczurów rasy *Wistar*-outbred.

Przy opracowywaniu pośredniej metody oznaczania azotu dla populacji hybrydy $F_1$ zaproponowano nieco inne postępowanie, aniżeli dotychczas. Z założeń metodycznych chemicznego oznaczania azotu wynika, że jest on jednocześnie funkcją trzech wielkości (zwanych dalej zmiennymi) tj. zawartości wody, ciężaru ciała i suchej masy. Formalnie jest to więc problem regresji wielowymiarowej, który w najprostszym przypadku można zapisać jako:

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 \qquad (4)$$

gdzie: y oznacza zawartość azotu natomiast $x_1$, $x_2$, $x_3$ oznaczają odpowiednio zawartość wody, ciężar ciała, suchą masę ciała.

Jednakże ponieważ między tymi trzema zmiennymi zachodzi dokładnie związek liniowy, wówczas równanie (4) nie ma jednoznacznego rozwiązania. Wynika to stąd, że zawsze dowolne dwie z rozpatrywanych zmiennych jednoznacznie determinują trzecią wielkość. Sprowadza to problem, do regresji dwóch zmiennych jednego z niżej przytoczonych równań *).

$$y_1 = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 \qquad (5)$$

$$y_2 = a_0 + a_1x_1 + a_3x_3 \qquad (6)$$

$$y_3 = a_0 + a_2x_2 + a_3x_3 \qquad (7)$$

Treść oznaczeń jak wyżej. Ponieważ powyższe zależności są brane pod uwagę w dalszych rozważania do celów praktycznych, zdecydowano się na wybór równania 5.

Na podstawie wyników z $n=39$ grup zwierząt doświadczalnych szczepu hybrydy $F_1$ w wieku 32, 33 i 34 dni, oszacowano parametry równania regresji wg wzoru 5 wyrażającego azot jako funkcję zawartości wody i ciężaru ciała. Uzyskano następujące równanie, które może służyć do pośrednich obliczeń zawartości azotu (y) w tuszy szczurów hybrydów $F_1$.

$$y = 0,4445 — 0,0026x_1 + 0,025x_2 \qquad (8)$$

$x_1$ = zawartość wody w tuszy zwierząt,
$x_2$ = końcowy ciężar ciała zwierząt.

Zgodność zawartości azotu w tuszy oznaczonego chemicznie z danymi wyliczonymi z powyższego równania jest bardzo wysoka gdyż współczynnik korelacji wielorakiej mierzący tę zgodność wynosi $R=0,99$. Dokładność oszacowania zawartości azotu na podstawie zawartości wody $x_1$ i ciężaru ciała $x_2$ ilustruje tabela V.

Jednocześnie dla porównania opracowano analogiczne równanie regresji dla szczepu *Wistar-outbred* Na podstawie $n=19$ wyników oszacowano parametry, równania wyrażającego zawartość azotu jako funkcję zawartości wody $x_1$ i ciężaru ciała $x_2$. Uzyskano następującą wartość parametrów:

$$y = 0,8167 — 0,0533x_1 + 0,0617x_2 \qquad (9)$$

(oznaczenia jak wyżej)

---

*) Ograniczono się tutaj do regresji liniowje. Dalsze wyniki przy $r = 0,99$ wskazują, że przybliżenie liniowe jest bardzo dobre.

Tabela V

Wyniki analizy statystycznej danych odnośnie szczurów szczepu hybrydy $F_1$

| Lp. | Zawartość wody w tuszy $x_1$ g | Ciężar ciała $x_2$ g | Zawartość azotu w tuszy y: oznaczona chemicznie g | Zawartość azotu w tuszy y: obliczona z równania regresji g | Różnice między 4 i 5 | Lp. | Zawartość wody w tuszy $x_1$ g | Ciężar ciała $x_2$ g | Zawartość azotu y: oznaczone chemicznie g | Zawartość azotu y: obliczone z równania regresji g | Różnica między 4 i 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | 102,0 | 146,0 | 3,99 | 3,98 | 0,01 | 21 | 165,0 | 247,0 | 6,35 | 6,44 | —0,09 |
| 2 | 104,0 | 150,0 | 3,98 | 4,07 | —0,09 | 22 | 154,0 | 227,0 | 6,15 | 5,95 | 0,20 |
| 3 | 161,0 | 246,0 | 6,46 | 6,42 | 0,04 | 23 | 159,0 | 234 0 | 6,22 | 6,12 | 0,10 |
| 4 | 167,0 | 254,0 | 6,58 | 6,61 | —0,03 | 24 | 163,0 | 243,0 | 6,38 | 6,34 | 0,04 |
| 5 | 162,0 | 243,0 | 6,38 | 6,34 | 0,04 | 25 | 159,0 | 237,0 | 5,98 | 6,19 | —0,21 |
| 6 | 104,3 | 149,8 | 4,07 | 4,07 | 0,00 | 26 | 161,0 | 242,0 | 6,68 | 6,32 | 0,26 |
| 7 | 103,5 | 149,5 | 4,22 | 4,06 | 0,16 | 27 | 163,0 | 248,0 | 6,84 | 6,47 | 0,37 |
| 8 | 182,0 | 279,0 | 7,23 | 7,23 | 0,00 | 28 | 165,0 | 247,0 | 6,48 | 6,44 | 0,04 |
| 9 | 175,5 | 261,0 | 6,56 | 6,77 | —0,21 | 29 | 155,0 | 232,0 | 6,24 | 6,97 | 0,17 |
| 10 | 188,5 | 292,5 | 7,50 | 7,56 | —0,06 | 30 | 164,0 | 246,0 | 6,51 | 6,41 | 0,10 |
| 11 | 179,0 | 277,0 | 6,92 | 7,18 | —0,26 | 31 | 159,0 | 239,0 | 6,04 | 6,25 | 0,21 |
| 12 | 183,2 | 283 7 | 7,22 | 7,34 | —0,12 | 32 | 113,0 | 160,0 | 4,26 | 4,31 | —0,05 |
| 13 | 107,0 | 152,0 | 4,27 | 4,12 | 0,15 | 33 | 106,0 | 157,0 | 4,43 | 4,25 | 0,18 |
| 14 | 99,0 | 138,0 | 3,71 | 3,78 | —0,07 | 34 | 175,5 | 260,0 | 6,79 | 6,74 | 0,05 |
| 15 | 101,0 | 139,0 | 3,62 | 3,79 | —0,17 | 35 | 186,5 | 282,0 | 7,35 | 7,29 | 0,06 |
| 16 | 99.0 | 141,0 | 3,89 | 3,85 | 0,04 | 36 | 174,0 | 260,8 | 6,67 | 6,77 | —0,10 |
| 17 | 100,0 | 129,0 | 3,72 | 3,79 | —0,07 | 37 | 175,0 | 257,8 | 6,63 | 6,69 | 0,06 |
| 18 | 180,5 | 268,5 | 6,97 | 6,96 | —0,01 | 38 | 175,0 | 261,0 | 6,86 | 6,78 | 0,08 |
| 19 | 175,9 | 264.5 | 7,60 | 6,86 | 0,74 | 39 | 178,0 | 269,0 | 7,02 | 6,98 | 0,04 |
| 20 | 158,0 | [illegible] | 6,27 | 6,27 | 0,00 | | | | | | |
| | | | | | średnia $\overline{x}$ | | 150,8 | 224,7 | 5,92 | 5,89 | |
| | | | | | odchylenie standardowe s | | 31,28 | 51,32 | 1,27 | 1,25 | |

Zgodność danych uzyskanych z bezpośredniego obliczenia azotu z wielkościami wyliczonymi na podstawie równania (9) jest bardzo wysoka. Współczynnik korelacji wielorakiej wynosi R=0,99. Dokładność oszacowania ilustruje tabela VI.

Tabela VI

Wyniki analizy statystycznej danych odnośnie szczurów szczepu *Wistar*-outbred

| Lp. | Zawartość wody $x_1$ g | Ciężar ciała $x_2$ g | Zawartość azotu y — oznaczona chemicznie g | Zawartość azotu y — obliczona z równania regresji g | Różnica między 4—5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | 167,5 | 243,3 | 6,75 | 6,90 | —0,15 |
| 2 | 114,2 | 161,2 | 4,64 | 4,68 | —0,04 |
| 3 | 162,0 | 234,3 | 6,77 | 6,64 | 0,12 |
| 4 | 155,8 | 221,3 | 6,34 | 6,17 | 0,17 |
| 5 | 156,9 | 226,4 | 6,55 | 6,42 | 0,13 |
| 6 | 172,3 | 245,6 | 6,42 | 6,79 | —0,37 |
| 7 | 116,6 | 163,9 | 4,70 | 4,71 | —0,01 |
| 8 | 106,5 | 151,0 | 4,40 | 4,46 | —0,06 |
| 9 | 108,7 | 154,4 | 4,51 | 4,55 | —0,04 |
| 10 | 152 4 | 215,4 | 6,27 | 5,98 | 0,29 |
| 11 | 173,7 | 252,3 | 6,92 | 7,12 | 0,20 |
| 12 | 122,0 | 166,6 | 4,44 | 4,59 | —0,15 |
| 13 | 110,5 | 155,1 | 4,64 | 4,50 | 0,14 |
| 14 | 156,4 | 224,0 | 6,52 | 6,30 | 0,22 |
| 15 | 176,2 | 255,0 | 7,26 | 7,16 | 0,10 |
| 16 | 168,5 | 244,9 | 6,95 | 6,95 | 0,00 |
| 17 | 114,9 | 162,7 | 4,67 | 4,73 | —0,06 |
| 18 | 120,7 | 171,7 | 5,06 | 4,98 | 0,08 |
| 19 | 113,7 | 162,2 | 4,69 | 4,76 | —0,07 |
| Średnia $\overline{x}$ | 140,5 | 200,6 | 5,71 | 5,70 | |
| Odchylenie standard. s | 25,56 | 40,07 | 1,07 | 1,06 | |

## WNIOSKI

Na podstawie wyników otrzymanych z przeprowadzonych badań oznaczania współczynnika wykorzystania białka NPU kazeiny można wnioskować, że:

1. Szczury mieszańce pierwszego pokolenia otrzymane z krzyżówki pierwszego pokolenia dwóch szczepów wsobnych *August×Wistar* WAG, czyli hybrydów $F_1$ nadają się do tego typu badań.

2. Stwierdzono bardzo zbliżone wielkości współczynnika NPU kazeiny oznaczonego na używanych dotychczas szacunkach szczepu *Wistar*-outbred i hybrydy $F_1$.

3. Wyniki uzyskane w warunkach tego doświadczenia wykazują mniejsze wahania przy zastosowaniu szczurów hybrydów $F_1$, *August×Wistar* WAG, na co między innymi wskazują wartości odchyleń stan-

dardowych NPU wynoszące dla szczurów hybrydów $F_1$ 5,4 natomiast 7,8 dla *Wistar*-outbred.

4. Zaobserwowana żywsza synteza białka u szczurów hybrydów $F_1$ może sugerować większą wrażliwość ich ustroju na niedobory aminokwasów w pożywieniu, co może odgrywać rolę w doświadczeniach żywieniowych.

5. Do ujemnych cech hybrydów $F_1$ możnaby zaliczyć zaobserwowaną pewną skłonność do odkładania tkanki tłuszczowej w ich organizmie, ale pomimo tego szczury te nadają się do badań NPU o czym świadczą wyniki obliczeń statystycznych.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej otrzymanych wyników wyprowadzono równanie regresji pozwalające na pośrednie oznaczenie zawartości azotu w tuszy szczurów hybrydów $F_1$ i *Wistar*-outbred oraz dużą zgodność zawartości azotu oznaczonego bezpośrednio chemicznie oraz obliczonego na podstawie równań (Nr 8 i 9) odpowiednio dla hybrydów $\bar{X}_{dośw.}=5,52$ i $\bar{X}_{oblicz.}=5,89$, a dla szczurów *Wistar*-outbred $\bar{X}_{dośw.}=5,71$ oraz $\bar{X}_{oblicz.}=5,70$. Wskazuje to, jak już uprzednio powiedziano, na dobre oszacowanie podanych równań regresji, a tym samym na ich przydatność w badaniach.

В. Шкиллондзиова, З. Зелиньска

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ КРЫС ГИБРИДОВ $Ф_1$ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОПЫТОВ В ОБЛАСТИ ПИТАНИЯ

### Содержание

Скрещенные крысы первого поколения (гибриды $Ф_1$) двох разных линейных пород (August x Wistar) были применены в опытах при определении коэффициента использования белка (NPU). С этой целью был использован стандартный белок — казеин. Полученные результаты сопоставлено с результатами полученными в опытах на беспородных крысах (Wistar outbred), которые до сех пор наиболее часто применялись. На основании полученных результатов можно сказать, что крысы гибриды $Ф_1$ пригодны для этого рода исследований. Получены весьма сходные величины коэффициента NPU казеина при применении исследуемых групп животных.

В условиях проведенных экспериментов полученные результаты потвергались меньшим колебаниям в группе животных гибридов $Ф_1$. На основании статистической обработки полученных результатов определено уравнение регрсии, которое позволяет косвенным способом определять содержание азота в теле крыс гибродов $Ф_1$ и Wistar outbred. Получено также высокое сходство результатов содержания азота определяемого непосредственно химическим методом и расчетным методом с применением установленных уравнений.

W. Szkiłądziowa, Z. Zielińska

## INVESTIGATIONS ON THE APPLICATION OF $F_1$ HYBRID RATS FOR BIOLOGICAL NUTRITIONAL EXPERIMENTS

### Summary

Rats of mixed origin, the first generation of $F_1$ hybrid of two inbred strains (*August* x *Wistar*) were used for experiments on determination of the nutritional protein utilization coefficient (NPU). The investigations were carried out on standard casein protein. The results were compared with data obtained in outbred

Wistar rats which have been most frequently used as yet for this purpose. In the light of the obtained results it may be stated that $F_1$ hybrid rats are suitable for these experiments. The values of NPU coefficient of casein were similar in both strains of rats.

The results in these experiments showed less evident fluctuations when $F_1$ hybrid rats were used. Statistical analysis of the obtained results served for formulation of a regression equation permitting an indirect determination of the content of nitrogen in the carcasses of $F_1$ hybrid rats and *Wistar*-outbred rats and showed a considerable agreement between the results of nitrogen determined indirectly by chemical methods and nitrogen calculated from the above mentioned equations.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Ballester D., Tagle M. A., Donoso G.:* The effect of human growth hormone on the rat protein utilisation of a 10% casein diet on the carcass composition on the rat. Nutr. Dieta, 1964, 6, 171—180. — 2. *Dvorak Z.:* Comparison of the methods for evaluaticn of nutritional value of protein. W. Methodological Conference of Analysie. Part I. Protain. PAN. Slesin, 23—29, September, 1973. — 3. *Frape D. L.* et all.: Protein quality assessment by the use of weanling rats. 1. Some affecting growth measurement. J. Sci. Food Agric., 1968, 19, 6, 308—314. — 4. *Henry K. M., Kon S. K.:* Effect of level of protein intake and of age of rat the no biologie value of proteins. Brit. J. Nutr., 1957, 11, 3, 305—313. — 5. *Lane-Petter W.:* Provision of laboratory animals for research a practical guide. Els. Publ. Co. Amsterdam——London, 1961. — 6. *Miller D. S.:* Evaluation of protein quality. III. Biological Assey Methods for Protein Evaluation. APP.C. A procedure for determination of NPU using rats body N technique. W: Report of an International Conference Council on Protein Malnutrition. Nat. Acad. Scic. Nat. Res. Counc. Publication 1100. Nation. Acad. Science. Nation. Res. Counc. Washington, 1963. — 7. *Miller D. S., Bender A. E.:* The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. Brit. J. Nutr., 1955, 9, 3, 382—385. — 8. *Njaa L. R.:* Biological value of herring — meal protein. Brit. J. Nutr., 1959, 13, 2, 142—150. — 9. *Rafalski H., Nogal E.:* Krótka metoda pośredniego wyliczania azotu w ciele szczura zastosowana do badań przyswajnia białka oraz Cz. I. Opracowanie wskaźnika do pośredniego wyliczenia azotu oraz Cz. II. Badanie przyswajania białka na podstawie pośrednio wyliczonego azotu. Roczniki PZH, 1964, XV, 6, 257—266, oraz 549—560. — 10. *Strasser H.:* Zur Standardisierung in der Versuchtierzucht und -haltung. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift. 1966, 5, 91—96.

11. *Szkiłłądziowa W., Rakowska M., Kunachowicz H.:* Ocena wartości odżywczej białek metodą Millera-Bendera. Przemysł Spożywczy, 1971, XXV, 1, 25—29. — 12. *Wysocki E., Zielińska Z., Wędzikowska T.:* Charakterystyka ciężaru ciała szczurów w populacji wsobnej mieszańców pierwszego pokolenia i niekrewniaczych żywionych standardową mieszanką SLM. Roczniki PZH, 1975, XXVI, 2, 231—238.

Dn. 8.X.1974 r.

02-903 Warszawa, ul. Powsińska 61/63